食糜特性的评价指标和测定方法

王　瑞　刘来亭*　牛小伟

（河南工业大学生物工程学院，郑州 450001）

摘　要：食糜特性不但影响饲料消化率，对动物的肠道健康也有重要的作用。本文总结了食糜特性的评价指标和测定方法，并对其中的方法进行了分析，为食糜特性的研究和应用提供参考。

关键词：食糜；黏度；滞留时间；消化酶；微生物菌群

中图分类号：S811

食糜是胃肠道中内容物的总称，是食物在消化道中经机械性消化变成的细碎颗粒，并混有消化液、微生物及其发酵产物等呈半流体或流体样的混合物。目前对食糜特性的评价指标主要有：黏度、pH、粒度、流量和滞留时间、持水力、消化酶活性和微生物菌群。

1　黏度

食糜黏度是影响动物对饲料消化程度的一个重要指标，黏度增加，溶质的扩散速度下降，食糜的消化速度减慢，营养物质从饲料中溶出的速度减慢，饲料消化率降低[1]。动物营养学中所研究的黏度是动力黏度，也称相对黏度，通常采用黏度计测定，方法为：采用某种分离方法将食糜中的液相和固相进行分离，采用黏度计对分离出的液相进行黏度测定，最终的黏度以食糜样品流出时间与同体积蒸馏水流出时间的比值来表示。

实际应用中，研究者对食糜样品的前处理不尽相同，汤海鸥等[2]在食糜样品中加入 10 mL 蒸馏水；霍文颖等[3]则将食糜稀释 6 倍；Lázaro 等[4]未对样品进行稀释处理。另外，在分离液相和固相时所采用的离心速度也不相同，如汤海鸥等[2]、霍文颖等[3]采用的转速为 5 000 r/min；吕秋凤等[5]则采用 3 000 r/min；刘长忠等[6]采用 12 000 r/min。由此可以看出，同一测定方法在具体应用上有很大差异，这样的差异对结果的影响到何种程度，目前未见报道。

2　pH

收稿日期：2017-12-29

基金项目：国家自然基金河南联合基金项目（U1404323）

作者简介：王　瑞（1992—），女，河南商丘人，硕士研究生，从事动物营养与饲料科学研究。E-mail: 1633731131@qq.com

*通信作者：刘来亭，教授，硕士生导师，E-mail: llting@haut.edu.cn

食糜 pH 是影响动物消化吸收的重要因素之一，也是食糜的一个重要指标。pH 会严重影响胃肠道中的消化酶活性和胃液的分泌，从而影响动物消化[7]，其测定大都采用酸度计，方法为：将食糜中的液相和固相进行离心分离后，测定其液相部分的 pH。

在 pH 测定中对样品的前处理也有如黏度测定时同样的问题，艾晓杰等[7]、毛宗林等[8]未对食糜样品进行稀释处理；吕秋凤等[5]则对样品进行了 10 倍稀释。存在的问题是食糜 pH 测定时如何对样品进行前处理，不同前处理是否会对结果产生偏差，未见相关文献报道。

3　粒度

食糜粒度是食糜的重要物理特性，通常采用粒径或粒度分布来表示其粒度的大小。饲料最适颗粒大小分布应适应动物的生理需求，能使营养物质的利用率达到最佳，提高动物的生产性能[9]。其测定方法通常有 2 种：1）筛分法，原理为：通过选择一系列不同孔径的标准筛，按孔径大小自上而下依次放置进行筛分，筛分结束后通过称重的方式确定各孔径标准筛中得到的颗粒重量，由此求得以质量分数表示的颗粒粒径分布[10]；2）激光散射法，原理为：以足够的浓度分散在合适的液体或者气体里的样品通过由单色光源(通常是激光)产生的光束，多元探测器测量粒子在任意角度的光散射，与散射模型相关的数值被记录下来用作后续的分析。这些散射数据通过恰当的光学模型和数学过程(米氏散射理论和弗朗霍夫近似理论)转化，生成不同的离散尺寸级数相对于整体积的比例，组成粒子尺寸分布[11]。

进行 2 种方法相关性的对比试验发现，筛分法适合测定粒径更大的颗粒(>45 μm)；激光散射法的测定范围广(0.02~2 000 μm)、分辨率高、检测速度快，因此激光散射法更加适用[12]。

4　流量和滞留时间

食糜流量和滞留时间均为食糜的重要物理特性。食糜流量可以表征营养物质的消化吸收率，在某一消化部位，流量越大，说明其在胃肠道的这一部位消化吸收量越大；相反其被消化吸收的量越小[13]。滞留时间通常用来表征某一饲料成分（多为饲料纤维含量）对食糜理化特性的改变[14]。目前国内外公认的测量食糜流量的方法有全收集法和指示剂法，全收集法是通过小肠体外吻合瘘管收集食糜，能够准确测定食糜总量，但其收集技术较繁琐、费人力，且试验动物不易护理、存活时间短[15]；指示剂法以指示剂在胃肠道中的流量以及指示剂的滞留时间等效替代食糜的流量和滞留时间[16]。指示剂对动物产生的应激小，因此指示剂法最受欢迎[15]。指示剂法使用的关键是选用适当的指示剂。关于内源和外源指示剂的测定结果也有许多报道，高新梅等[17]认为用外源指示剂铬（Cr）作为饲料标记物时，发现无法排除饲料因素与被测饲料的互作效应；Barnett 等[18]采用乙二胺四乙酸二钴（Co-EDTA）外源指示剂作为标记物测定食糜流量，发现结果

的变异系数为 5.1±2.0，说明其作为标记物具有一定的可靠性；张乃峰等[19]分别用外源指示剂三氧化二铬（Cr_2O_3）和聚乙二醇（PEG）–4000 作为标记物测定食糜流量，发现 Cr_2O_3 作为标记物可以得到更合理的结果；Solà-Oriol 等[20]认为用二氧化钛（TiO_2）标记的食糜比 Cr 标记的食糜流通速度快；张乃锋[21]用 Cr_2O_3 作为固相标记物，PEG 作为液相标记物，发现双标记法测得的食糜流量变异系数较小，稳定性与可靠性更好；Faichney[22]使用 Cr 作为标记物研究甲醛处理饲粮对绵羊胃肠道溶质和颗粒物流量的影响，发现 4.9% 的 Cr 被吸收到尿液中，说明部分 Cr 被机体吸收代谢。可以看出，所用的标记物都不尽相同，以标记物的种类为变量进行探究试验有助于找出更适用的标记物。

5　持水力

食糜持水力是指食糜对自身水分的保持能力和对外加水分的亲合能力，又称保水性。食糜的持水力会影响到食糜黏度[23]。食糜持水力的测定方法有 2 种：1）烘干法，是将食糜样品离心后取沉淀，进行 105 ℃烘干，以烘干减少重量与烘干后重量的比值来表示持水力[24]；2）离心法，是将食糜样品以 2 500 r/min 离心 10 min，弃去上清液，称取离心管重量，以离心后减少重量与离心后沉淀重量的比值来表示持水力[25]。

目前对于以上 2 种方法孰优孰劣还尚无定论，可以分别利用这 2 种方法针对同一物质的持水力进行测定，以比较出哪种方法更科学、更适用。

6　消化酶活性

食糜消化酶活性是食糜最重要的特性指标之一，是动物营养学研究的重点，是影响动物对营养物质消化吸收的关键因素，消化酶活性增加能提高动物对营养物质的消化率[26]。目前，测定食糜消化酶活性时重点检测淀粉酶、脂肪酶、胰蛋白酶、糜蛋白酶、麦芽糖酶、蔗糖酶、乳糖酶和羧甲基纤维素酶的活性[27-29]。酶活性的测定原理为：利用酶能专一而高效催化化学反应的性质，通过测定酶促反应速度来检测样品中某种酶的含量和活性。现行的酶活性测定方法有很多，不同的酶活性采用的方法也不同。淀粉酶活性测定采用碘–淀粉比色法；脂肪酶活性测定采用比浊法；胰蛋白酶活性测定采用 N–苯甲酰–*L*–精氨酸乙酯(BAEE)法；总蛋白酶活性测定采用福林–酚法。概括为分光光度计法、旋光法、荧光法和化学反应法，相对来说分光光度计法是较为常用的酶活性检测方法。总之，酶活性的测定方法逐渐向简单化、高精度、重复性强的方向发展，所以基于酶标仪检测的试剂盒法已成为目前应用较多的方法；如史东杰等[30]对锦鲤胰蛋白酶、脂肪酶和淀粉酶活性的测定；林厦菁等[31]对肉鸡脂肪酶、淀粉酶、胰蛋白酶、糜蛋白酶活性的测定；王国霞等[32]对花鲈蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶活性的测定；付旭等[33]对淡黑镊丽鱼胃蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶活性的测定。该方法的特点是将样品进行前处理后，采用厂家提供的试剂盒，并按照试剂盒中指定方法进行；

该方法操作简便、专业化程度高、精确度高。测定的主要步骤为：将食糜样品用一定体积的0.86%的氯化钠溶液（匀浆液）进行稀释、匀浆，低温超速离心机4 ℃下3 000 r/min离心20 min，取上清液，按照相关酶活性测定试剂盒的操作说明进行操作，使用酶标仪进行吸光度值检测，从而得出酶活性。

7　微生物菌群

食糜微生物菌群即肠道微生态系统是食糜最重要的指标之一。食糜微生物菌群的平衡对动物养分代谢、机体免疫、促进动物健康及营养物质利用等方面起着重要作用，研究食糜微生物菌群有益于揭示胃肠道消化吸收和代谢的作用机理[34-35]。

传统测定食糜微生物菌群采用平板计数法，即在无菌环境中取一定量肠道内容物，用磷酸盐缓冲液10倍递度稀释至10^{-6}，选择合适的稀释梯度分别滴种于各选择性培养基进行培养，其数量用每克肠道内容物中细菌个数的对数[lg（CFU/g）]来表示。根据细菌在相应选择性培养基上所形成的菌落特征，结合革兰氏染色及镜检对其进行鉴定。随着分子生物学的发展，食糜微生物菌群的分子生物学研究方法得到广泛应用，目前采用较多的是变性梯度凝胶电泳（DGGE）技术、末端限制性片段长度多态性（T-RLFP）技术、实时荧光定量PCR技术、基因芯片技术和宏基因组技术。这些技术在动物营养学相关领域的应用研究也较来越多，Simpson等[36]将DGGE技术用于检测猪粪便微生物菌群的组成；Kocherginskaya等[37]研究了阉公牛瘤胃液样品的DGGE图谱；张永婧等[38]利用T-RLFP技术研究了不同纤维来源的饲粮和细胞壁降解酶对猪肠道微生物菌群多样性及其组成结构的影响；潘艳艳等[39]运用T-RLFP技术分析了鲈鱼前肠壁、中肠壁、后肠壁及粪便中的细菌群落特征及其多样性；Shtriker等[40]采用实时荧光定量PCR技术对小鼠的肠道微生物菌群进行了分析；基因芯片技术在传统印迹杂交的基础上，用1个试验可以监控成千基因的表达，Luo等[41]使用基因芯片技术探究了猪粪便微生物菌群多样性的差异；吴鹏等[42]应用宏基因组技术研究了瘤胃微生物多样性及功能；Nielsen等[43]使用宏基因组技术对猪粪便中微生物多样性及其功能进行了研究。虽然分子生物学方法较传统方法有不可代替的优点，但也存在样品保存问题、样品DNA的质量问题和纯化等问题[44]。

8　结　论

食糜和肠道是动物消化吸收最重要的2个方面，有关肠道的研究比较多，有关食糜的状态和特性对营养物质利用影响的研究相对较少，且目前评定食糜特性的指标少，测定方法也存在差异，能客观反映食糜特性的指标还有待进一步探讨。食糜的形成和变化不但受饲料组成的影响，受肠道本身的影响也很大，科学评价食糜的理化特性和流变特性是动物营养和饲料加工研究的方向，这不但有助于研究达到动物对营养物质最佳吸收状态时食糜的特性，也为饲料配制、饲料加工、饲料原料以及添加剂的使用提供理论基础和

科学依据。

参考文献：

[1] CHOCT M,ANNISON G.Anti-nutritive effect of wheat pentosans in broiler chickens:roles of viscosity and gut microflora[J].British Poultry Science,1992,33(4):821–534.

[2] 汤海鸥,高秀华,姚斌,等.低能日粮中添加高剂量复合酶对肉鸡血清激素含量和微生物菌群的影响[J].饲料工业,2013,34(18):25–29.

[3] 霍文颖,郑立,王志祥.不同日粮添加 NSP 酶对断奶仔猪食糜黏度、挥发性脂肪酸及肠道形态的影响[J].中国畜牧杂志,2013,49(7):49–52.

[4] LÁZARO R,LATORRE M A,MEDEL P,et al.Feeding regimen and enzyme supplementation to rye-based diets for broilers[J].Poultry Science,2004,83(2):152–160.

[5] 吕秋凤,文宗雪,邵彩梅,等.小麦日粮中添加木聚糖酶对肉鸡肠道大肠杆菌数量、pH 值及食糜黏度的影响[J].饲料工业,2013,34(2):41–44.

[6] 刘长忠,王自良,何瑞国,等.NSP 酶制剂对生长鹅小肠食糜黏度及盲肠微生物数量的影响[J].中国兽医学报,2010,30(4):502–504.

[7] 艾晓杰,韩正康.粗酶制剂对鹅十二指肠食糜 pH、粘度和酶活性的影响[J].华中农业大学学报,2001,20(5):454–456.

[8] 毛宗林,曹爱青,何瑞国.酶制剂对雏鹅小肠食糜相对黏度、pH 值及消化酶活性的影响[J].粮食与饲料工业,2007(6):36–38.

[9] Animal Feed Science and Technology.饲料结构(颗粒粒度)和饲料形态(粉料对制粒)在猪营养中的重要性(综述)[J].韩浩月,译.国外畜牧学(猪与禽),2017,37(8):81–84.

[10] 王海霞.筛分法与激光粒度法对比实验分析[J].石化技术,2016,23(9):41.

[11] SILVA A F T,BURGGRAEVE A,DENON Q,et al.Particle sizing measurements in pharmaceutical applications:comparison of in-process methods versus off-line methods[J].European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics,2013,85(3):1006–1018.

[12] 李文凯,吴玉新,黄志民,等.激光粒度分析和筛分法测粒径分布的比较[J].中国粉体技术,2007,13(5):10–13.

[13] 刘洪亮.不同纤维源在鹅体内消化动态的研究[D].硕士学位论文.长春:吉林农业大学,2007.

[14] BENELAM B.Satiety and the anorexia of ageing[J].British Journal of Community Nutrition,2009,14(8):332–335.

[15] 王加启.反刍动物营养学研究方法[M].北京:现代教育出版社,2011:164–168.

[16] WALKER J A,HARMON D L,GROSS K L,et al.Evaluation of nutrient utilization in the canine using the ileal cannulation technique[J].The Journal of Nutrition,1994,124(Suppl.12):2672S–2676S.

[17] 高新梅,郑猛,牛露,等.育肥羊饲喂全混合日粮条件下瘤胃固相食糜外流速度及其有效降解率的评定[J].中国畜牧兽医,2017,44(2):456–462.

[18] BARNETT M C,FORSTER N A,RAY G A,et al.Using portable X-ray fluorescence (pXRF) to determine fecal concentrations of non-absorbable digesta kinetic and digestibility markers in sheep and cattle[J].Animal Feed Science and Technology,2016,212:35–41.

[19] 张乃峰,王中华,李福昌,等.非同位素双标记法测定十二指肠、回肠食糜流量方法的研究[J].畜牧兽医学报,2005,36(3):225–229.

[20] SOLÀ-ORIOL D,TORRALLARDONA D,GASA J.Role of dietary fibre source and meal size on the ileal transit of digesta in growing pigs[J].Livestock Science,2010,133(1/2/3):67–69.

[21] 张乃锋.邻菲咯啉对小尾寒羊蛋白质消化代谢的影响及非同位素双标记法测定十二指肠食糜流量方法的研究[D].硕士学位论文.济南:山东农业大学,2002.

[22] FAICHNEY G J.The effect of formaldehyde treatment of a concentrate diet on the passage of solute and particle markers through the gastrointestinal tract of sheep[J].Australian Journal of Agricultural Research,1975,26(2):319–327.

[23] 连小燕,钟振声.一种提高非水溶性玉米膳食纤维持水力的方法[J].食品工业科技,2012,33(12):180–183,187.

[24] BOURQUIN L D,TITGEMEYER E C,Fahey G C,Jr.Fecal Bacteria:cell wall polysaccharide disappearance and short-chain fatty acid production during *in vitro* fermentation and water-holding capacity of unfermented residues[J].The Journal of Nutrition,1993,123(5):860–869.

[25] ESPOSITO F,ARLOTTI G,BONIFATI A M,et al.Antioxidant activity and dietary fiber in durum wheat bran by-products[J].Food Research International,2005,38(10):1167–1173.

[26] SHANG Q H,MA X K,LI M,et al.Effects of α-galactosidase supplementation on nutrient digestibility,growth performance,intestinal morphology and digestive enzyme activities in weaned piglets[J].Animal Feed Science and Technology,2018,236:48–56.

[27] 范小红,郝力壮,刘书杰,等.双低油菜籽不同添加水平对牦牛空肠和盲肠食糜消化酶活性的影响[J].中国饲料,2017,(18):15–18,23.

[28] 曾本和,廖增艳,吴双,等.饲料脂肪水平对大鳞副泥鳅幼鱼生长性能、消化酶活性及抗氧化能力的影响[J].

动物营养学报,2016,28(04):1105-1113.

[29] 郭江鹏,王俊,李发弟,等.断奶日龄对舍饲羔羊小肠内容物中主要消化酶活性的影响[J].中国畜牧兽医,2017,44(9):2603–2612.

[30] 史东杰,梁拥军,许金华,等.微生态制剂对锦鲤生长、消化酶活性和表观消化率的影响[J].江苏农业科学,2017,45(13):136–139.

[31] 林厦菁,蒋守群,洪平,等.黄羽肉鸡与白羽肉鸡胃肠道消化酶活性比较研究[J].中国家禽,2017,39(13):26–30.

[32] 王国霞,王敏,孙育平,等.外源脂肪酶对花鲈生长性能、体组成、血清生化指标、消化酶活性及营养物质表观消化率的影响[J].动物营养学报,2017,29(12):4542–4553.

[33] 付旭,崔前进,陈冰,等.饲料脂肪水平对淡黑镊丽鱼消化酶、免疫酶以及抗氧化酶的影响[J].河北渔业,2017,(12):9–13.

[34] 庞惠文,邵建忠,何闪,等.肠道微生物菌群组对动物健康和生长的影响[J].国外畜牧学(猪与禽),2016,36(12):1–4.

[35] STEPHEN P C,MAHUREN J D,WOSTMANN B S.Role of intestinal microflora in the metabolism of vitamin B-6 and 4′-deoxypyridoxine examined using germfree guinea pigs and rats[J].The Journal of Nutrition,1989,119(2):181–188.

[36] SIMPSON J M,MCCRACKEN V J,WHITE B A,et al.Application of denaturant gradient gel electrophoresis for the analysis of the porcine gastrointestinal microbiota[J].Journal of Microbiological Methods,1999,36(3):167–179.

[37] KOCHERGINSKAYA S A,AMINOV R I,WHITE B A.Analysis of the rumen bacterial diversity under two different diet conditions using denaturing gradient gel electrophoresis,random sequencing,and statistical ecology approaches [J].Anaerobe,2001,7(3):119–134.

[38] 张永婧,刘强,张文明,等.不同纤维来源饲粮和细胞壁降解酶对猪肠道微生物菌群多样性的影响[J].动物营养学报,2016,28(10):3275–3283.

[39] 潘艳艳,钱云霞,张德民.应用 T-RFLP 技术分析鲈鱼肠道菌群[J].生物学杂志,2015,32(6):100–104.

[40] SHTRIKER M G,HAHN M ,TAIEB E,et al.Fenugreek galactomannan and citrus pectin improve several parameters associated with glucose metabolism and modulate gut microbiota in mice[J].Nutrition,2018,46:134–142.e3.

[41] LUO Y H,SU Y,WRIGHT A D G,et al.Lean breed Landrace pigs harbor fecal methanogens at higher diversity and density than obese breed Erhualian pigs[J].Archaea,2012,2012:605289.

[42] 吴鹏,陈忠法,王佳堃.宏基因组学揭示瘤胃微生物多样性及功能[J].动物营养学报,2017,29(5):1506–1514.

[43] NIELSEN T S,LÆRKE H N,THEIL P K.Diets high in resistant starch and arabinoxylan modulate digestion processes and SCFA pool size in the large intestine and faecal microbial composition in pigs[J].British Journal of Nutrition,2014,112(11):1837–1849.

[44] 汤文杰,唐凌,张纯,等.分子生物学技术在胃肠道微生物研究中的应用[J].四川畜牧兽医,2016,43(6):27–29.

Evaluation Indexes and Determination Methods of Chyme Characteristics

WANG Rui　LIU Laiting*　NIU Xiaowei

(*College of Bioengineering*，*Henan University of Technology*，*Zhengzhou* 450001，*China*)

Abstract: Chyme characteristics not only affect feed digestibility, but also have important effects on animal intestinal health. This paper reviewed the evaluation indexes and determination methods of chyme characteristics and analysed the methods, which would provided a reference for the research and application of chyme characteristics.

Key words: chyme; viscosity; residence time; digestive enzyme; microbial flora

*Corresponding author, professor, E-mail: llting@haut.edu.cn　　（责任编辑　李慧英）